

Josef Herbst

CORTISOL UND L/S-RATIO IM FRUCHTWASSER,
SOWIE ÖSTRIOL UND CORTISOL IM MÜTTERLICHEN
VENENBLUT, IN BEZIEHUNG ZUR FETALEN LUNGENREIFE

Münster 1979

1980



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555408_0047

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet

Aus der Frauenklinik
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. F. K. Beller
Direktor: Prof. Dr. H. P. G. Schneider
Abteilung für Experimentelle Endokrinologie
Leiter: Prof. Dr. E. Nieschlag

Cortisol und L/S-Ratio im Fruchtwasser, sowie Östriol und Cortisol im mütterlichen Venenblut, in Beziehung zur fetalen Lungenreife

INAUGURAL - DISSERTATION

zur

Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Fachbereiche

5 Vorklinische und Theoretische Medizin und

6 Klinische Medizin

der Medizinischen Fakultät

der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von

Josef Herbst

aus Gelsenkirchen

1979



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Dekan: Prof. Dr. H. Themann

1. Berichterstatter Prof. Dr. E. Nieschlag

2. Berichterstatter Prof. Dr. H. P. G. Schneider

Tag der Promotion: 3.12.1979

Aus der Frauenklinik

der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Referent: Prof.Dr.E.Nieschlag; Korreferent: Prof.Dr.H.P.G. Schneider

Z u s a m m e n f a s s u n g

Herbst Josef

CORTISOL UND L/S-RATIO IM FRUCHTWASSER, SOWIE ÖSTRIOL UND CORTISOL IM MÜTTERLICHEN VENENBLUT, IN BEZIEHUNG ZUR FETALEN LUNGENREIFE

Die Bestimmung des Lecithin/Sphingomyelin Quotienten (L/S-Ratio) im Fruchtwasser hat in den letzten Jahren einen hohen Stellenwert bei der Diagnose der fetalen Lungenreife und damit der Terminierung einer Geburt erhalten. Da Glucocorticoide einen entscheidenden reifungsfördernden Einfluß auf die fetale Lunge ausüben, könnte auch ihre Bestimmung von diagnostischem Wert sein. Daher wurde in dieser Studie der Zusammenhang zwischen L/S-Ratio und Cortisolgehalt im Fruchtwasser ($n = 91$) untersucht; ebenso wurde die Abhängigkeit von L/S-Ratio, Cortisolgehalt und Östriolgehalt im mütterlichen Venenblut ($n = 70$) bei normalen und komplizierten Schwangerschaften ermittelt.

Eine signifikante Korrelation zwischen Gestationsalter und Cortisolgehalt im Fruchtwasser ($r = 0,711$), Cortisol im mütterlichen Plasma ($r = 0,625$) und Östriol im mütterlichen Plasma ($r = 0,742$) wurde gefunden. Ebenso bestand eine signifikante Korrelation zwischen L/S-Ratio und Fruchtwassercortisolgehalt ($r = 0,701$). Verglichen mit der L/S-Ratio wurden aber hier 10% falsch positive und 11% falsch negative Ergebnisse ermittelt. Die signifikante Korrelation zwischen L/S-Ratio und Cortisolgehalt im mütterlichen Plasma ($r = 0,631$) ergab einen Prozentsatz von 16% falsch positiven und 6% falsch negativen Werten. Den größten Anteil an falschen Ergebnissen und die schlechteste Korrelation ($r = 0,554$) zeigte die Beziehung zwischen L/S-Ratio und Plasmaöstriolgehalt im mütterlichen Venenblut. Hier wurden 17% falsch positive und 12% falsch negative Ergebnisse gefunden. Der hohe Prozentsatz an falschen Ergebnissen führt zu dem Schluß, daß die Bestimmung von Cortisol und Östriol, gegenüber der L/S-Ratio, die nur in 3% der Fälle zu falschen Ergebnissen führt, zur Diagnose der fetalen Lungenreife keinen Vorteil bringt.

Tag der Promotion: 3.12.1979

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Abkürzungen	1
2. Einleitung	2
2.1 Phospholipide im Fruchtwasser und Lungenreife	2
2.2 Cortisol und Lungenreife	3
2.3 Östriol und Lungenreife	3
2.4 Fragestellung der Untersuchung	4
3. Patienten, Reagentien und Methoden	6
3.1 Patienten	6
3.2 Reagentien	7
3.2.1 Reagentien für die L/S-Ratio-Bestimmung	7
3.2.2 Reagentien für den Radioimmunoassay Cortisol	7
3.2.3 Reagentien für den Radioimmunoassay Östriol	8
3.3 Methoden	10
3.3.1 Methodik der L/S-Ratio-Bestimmung	10
3.3.1.1 Prinzip	10
3.3.1.2 Probenvorbereitung	10
3.3.1.3 Extraktion	10
3.3.1.4 Dünnschichtchromatographie	11
3.3.1.5 Auswertung	12
3.3.1.6 Präzision	15
3.3.2 Methodik der Cortisolbestimmung	16
3.3.2.1 Prinzip	16
3.3.2.2 Antiserum	16
3.3.2.3 Ansatz	17
3.3.2.4 Inkubation und Trennung	18
3.3.2.5 Auswertung	19
3.3.2.6 Präzision	20
3.3.3 Methodik der Östriolbestimmung	21
3.3.3.1 Prinzip	21
3.3.3.2 Antiserum	21

3.3.3.3	Extraktion	21
3.3.3.4	Ansatz	22
3.3.3.5	Inkubation und Trennung	23
3.3.3.6	Auswertung	24
3.3.3.7	Präzision	24
3.3.4	Statistische Auswertung	25
4.	Ergebnisse	26
4.1	L/S-Ratio und Gestationsalter	26
4.2	Fruchtwassercortisol und Gestationsalter	28
4.3	Plasmacortisol und Gestationsalter	29
4.4	Plasmaöstriol und Gestationsalter	30
4.5	Beziehung zwischen L/S-Ratio und Fruchtwassercortisol	31
4.6	Beziehung zwischen L/S-Ratio und Plasmacortisol	33
4.7	Beziehung zwischen L/S-Ratio und Plasmaöstriol	35
5.	Diskussion	37
5.1	Methodische Probleme	37
5.1.1	Probenvorbereitung	37
5.1.2	L/S-Ratio-Bestimmung	38
5.1.3	RIA Cortisol	39
5.1.4	Auswahlkriterien für das Probenkollektiv	40
5.2	L/S-Ratio, Cortisol und Östriol als Parameter zur Bestimmung der fetalen Lungenreife	41
5.3	Schlußfolgerung	48
6.	Zusammenfassung	49
7.	Literaturverzeichnis	51
8.	Dankvermerk	63
9.	Lebenslauf	64

1. Abkürzungen

DC-Platte	Dünnschichtchromatographieplatte
DHEA	Dehydroepiandrosteron
DHEA-S	Dehydroepiandrosteronsulfat
L/S-Ratio	Quotient aus der Konzentration Lecithin/ Sphingomyelin
NNR	Nebennierenrinde
n	Anzahl der Proben
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
r	Regressionskoeffizient
RIA	Radioimmunoassay
Rh-Inkomp.	Rhesusinkompatibilität
SSW	Schwangerschaftswoche

2. Einleitung

2.1 Phospholipide im Fruchtwasser und Lungenreife

Im Rahmen der Überwachung der Risikoschwangerschaft spielt die Diagnose der fetalen Lungenreife eine wichtige Rolle (8). Das Atemnotsyndrom bedingt einen hohen Anteil der Neugeborenenmorbidity und -mortality. Nach einer Untersuchung von KEUTH (36) sind davon ca. 8% aller Frühgeborenen betroffen. Die Ursache für die Entwicklung eines Atemnotsyndroms liegt in einer nicht ausreichenden Stabilität der Lungenalveolen. Beim reifen Neugeborenen vermindert eine aus Phospholipiden zusammengesetzte Substanz - Surfactant oder Anti-Atelektase-Faktor genannt - die Oberflächenspannung und verhindert so den Kollaps der Alveole, die Atelektase und letztlich das Krankheitsbild des Atemnotsyndroms (8).

Fetale Alveolarzellen vom Typ II bilden in ihren osmophilen Granula diese Phospholipide ((11), (80)). 1971 zeigten GLUCK et al. (28) die Beziehung zwischen Gestationsalter, Lungenreife und Phospholipiden im Fruchtwasser. Er stellte fest, daß zwei nicht veresterbare Phospholipidfraktionen, Lecithin und Sphingomyelin, bis zur 36.SSW annähernd die gleiche Konzentration in der Amnionflüssigkeit aufweisen. In den folgenden Schwangerschaftswochen steigt die Lecithinkonzentration um ein Vielfaches gegenüber der Sphingomyelinmenge an.

Basierend aus diesen Erkenntnissen wurde von GLUCK das Verhältnis Lecithin zu Sphingomyelin als Kriterium zur Bestimmung der fetalen Lungenreife eingeführt.

Der Lecithin/Sphingomyelin-Quotient - kurz L/S-Ratio genannt - läßt eine Aussage über das Auftreten des idiopathischen Atemnotsyndroms zu. Bei einer L/S-Ratio > 2 liegt die Wahrscheinlichkeit eines Atemnotsyndroms unter 5%, bei einer L/S-Ratio < 2 zwischen 20-60% (41).

2.2 Cortisol und Lungenreife

Eine Untersuchung von MURPHY (53) zeigte, daß die Cortisol- und Cortisospiegel im Nabelschnurblut von Säuglingen, die ein Atemnotsyndrom entwickelten, signifikant niedriger lagen als bei Frühgeborenen und termingerecht Geborenen.

Aus diesen Erkenntnissen und tierexperimentellen Studien ((14), (37), (48)) resultierte die prophylaktische Therapie des Atemnotsyndroms des Neugeborenen mit Corticosteroidgaben an die Mutter ((12), (24), (49), (76), (82)). Ziel dieser Therapie ist die Induktion der Lungenreife durch Stimulation der Surfactantproduktion mittels Glucocorticoiden. Darüberhinaus wurde der Anstieg der Cortisolkonzentration im Fruchtwasser mit steigender Gestationsdauer nachgewiesen (54), so daß eine Korrelation mit der Lungenreife vermutet werden konnte.

2.3 Östriol und Lungenreife

Mit zunehmender Schwangerschaftsdauer steigt die Östriolproduktion kontinuierlich an und beträgt am Ende etwa 30-50 mg/24 Std. (35). Die Synthese der Östrogene, wobei

Östriol 80-90 % der insgesamt ausgeschiedenen Östrogenmenge ausmacht, erfolgt in der fetoplazentaren Einheit (17).

Die Vorstufen zur Östrogensynthese werden zu 90 % von der fetalen Nebennierenrinde gebildet und in der Plazenta zu Östriol synthetisiert. Die Bereitstellung der Östriolvorstufen durch den Feten ist bei Gefährdung des Feten vermindert und endet mit dem intrauterinen Fruchttod. Die Bestimmung des Östriols und dessen steigende Produktion im Verlauf der Schwangerschaft ist daher ein wichtiger Parameter zur Beurteilung des Wohlbefindens des Feten und der Funktionsfähigkeit der fetoplazentaren Einheit geworden ((42),(18)).

Dehydroepiandrosteronsulfat (DHEA-S) als Vorstufe des Östriols ist von der Syntheseleistung der fetalen NNR abhängig (16). Da eine ausreichende Nebennierenrindenaktivität auch für die Ausbildung der Lungenreife für notwendig erachtet wird ((55), (79), (15), (13), (57)), könnte auch hier ein Zusammenhang zwischen der Östriolkonzentration im mütterlichen Plasma und der fetalen Lungenreife, ausgedrückt durch die L/S-Ratio, vermutet werden.

2.4 Fragestellung der Untersuchung

Die vorliegende Studie untersucht den Zusammenhang zwischen dem Cortisolgehalt im Fruchtwasser sowie Plasmacortisol und Plasmaöstriol der Mutter in Relation zur L/S-Ratio, um zu prüfen, ob der Bestimmung von Cortisol oder Östriol eine Bedeutung in der Diagnostik der fetalen Lungenreife zukommt,

und ob diese Hormonbestimmungen eventuell sogar Vorteile gegenüber der Bestimmung der L/S-Ratio bringen.

3. Patienten, Reagentien und Methoden

3.1 Patienten

Bei 72 Patientinnen zwischen der 14. und 41. Schwangerschaftswoche mit normalen und komplizierten Schwangerschaften wurden 91 Fruchtwasserproben, größtenteils durch transabdominale Amniozentese, aber auch bei der künstlichen Blasensprengung gewonnen und auf ihren Cortisolgehalt und die L/S-Ratio untersucht. Bei 70 Punktionen wurde gleichzeitig bei der Mutter Blut aus einer Armvene zur Bestimmung des Plasmacortisol- und Plasmaöstriolgehaltes entnommen.

Zwischen der 14. und 20. SSW wurden im Rahmen der pränatalen Diagnostik 16 Fruchtwasser- und Plasmaproben gewonnen. Von Patientinnen mit Rh-Inkompatibilität zwischen der 21. und 37. SSW wurden 20 Fruchtwasserproben und 12 Plasmaproben untersucht; 5 Proben (Fruchtwasser und Plasma) stammten von Patientinnen, die frühestens einen Tag vorher Betamethason zur Induktion der fetalen Lungenreife erhielten. Bei Schwangerschaftskomplikationen wie Präeklampsie wurden 5, bei vorzeitiger Wehentätigkeit 2, Diabetes 3 und bei primärer Sectio 3 Proben gewonnen (jeweils Fruchtwasser und Plasma). Die übrigen 37 Fruchtwasser- und 24 Plasmaproben stammten von komplikationslosen Schwangerschaften. Bei keinem Neugeborenen trat ein manifestes Atemnotsyndrom auf.

3.2 Reagentien

3.2.1 Reagentien für die L/S-Ratio-Bestimmung

Aceton p.a.	Fa. Merck, Darmstadt, Art.Nr.: 14
Ammoniak p.a.	Fa. Merck, Darmstadt, Art.Nr.: 5432
Bromthymonblau	Fa. Merck, Darmstadt, Art.Nr.: 3026
Chloroform p.a.	Fa. Merck, Darmstadt, Art.Nr.: 2442
Natronlauge 1n p.a.	Fa. Merck, Darmstadt, Art.Nr.: 9137
Lecithin	Fa. Sigma Chemie GmbH, München, Art.Nr.: P 6138
Sphingomyelin	Fa. Sigma Chemie GmbH, München, Art.Nr.: S 7004

Lösungen:

Färbelösung: 40mg Bromthymolblau gelöst in 0,25 ml 4n Natronlauge + 100 ml Wasser

Lecithinlö-: 10 mg Lecithin in 10 ml Chloroform
sung

Sphingomye-: 10 mg Sphingomyelin in 10 ml Chloroform
linlösung

L/S-Stan- : 1 ml Lecithinlösung + 1 ml Sphingomyelinlösung
dardlösung
1/1

3.2.2 Reagentien für den Radioimmunoassay Cortisol

Alle verwendeten Reagentien sind Handelsprodukte der Firma CIS (Isotopendienst West GmbH, Dreieich).

³H-markiertes Cortisol in äthanolischer Lösung

Cortisol-Standard in äthanolischer Lösung

Immunsorbent (Cortisolantiserum, gekoppelt an aktivierte
Zellulose, lyophilisiert)

Phosphat-Zitrat-Puffer pH 3,5, 0,5 % Lysozym (homogenisierte
Trockenmischung)

Die benötigten Lösungen wurden nach der Arbeitsanleitung
mit Pufferlösung auf ihr Endvolumen aufgefüllt.

Die Szintillationsflüssigkeit bestand aus:

Dioxan, reinst Fa. Merck, Darmstadt Art.Nr.: 3115

Instafluor Fa. Packard, Frankfurt

3.2.3 Reagentien für den Radioimmunoassay Östriol

Essigsäureäthylester Fa. Merck, Darmstadt, Art.Nr.: 9623

n-Hexan Fa. Merck, Darmstadt, Art.Nr.: 4367

Dextran T60 Fa. Serva, Heidelberg, Art.Nr.: 18680

Norit A-Kohle 4-5µ Fa. Serva, Heidelberg, Art.Nr.: 30890

Phosphatpuffer nach Sörensen, pH 7,2 (enthält 5 mM NaN_3)

Serum-Albumin vom Rind Behringwerke AG, Marburg

Östriol reinst Fa. Serva, Heidelberg, Art.Nr.: 31130

Lösungen:

Östriolstammlösung: 25 mg Östriol/25 ml Äthanol

Radioaktive Stammlösung

2,4, 6, 9 ^3H -Östriol/2 ml Äthanol (spez. Akt. 94 Ci/mmol)

Produkt der Firma NEN Chemicals GmbH, Dreieichenhain

Antiserum

Anti E_3 -A S-K5, Arbeitsverdünnung 1 : 24.000 mit Puffer wurde
uns freundlicherweise von Herrn Prof. Dr. Dr. Kuss, München,
zur Verfügung gestellt.

Rinderserumalbuminlösung

100 mg Rinderserumalbumin / 100 ml Puffer

Kohle-Dextran-Lösung

15 mg Dextran

gelöst in 210 ml Puffer

150 mg Norit A

Alle wässrigen Lösungen wurden mit "Aqua pro Injectione",
Fa. Braun, Melsungen, angesetzt.

3.3 Methoden

3.3.1 Methodik der L/S-Ratio-Bestimmung

3.3.1.1 Prinzip

Die Bestimmung der L/S-Ratio erfolgt nach dem Verfahren von BORER et.al. (10). Die Fruchtwasser-Phosphatide werden mit Chloroform/Methanol extrahiert. Der Chloroformextrakt mit den gelösten Phosphatiden wird eingedampft und das "surfactantaktive" Lecithin und andere Phosphatide mit eiskaltem Aceton gefällt. Nach Auflösung der gefällten Phosphatide in wenig Chloroform werden sie durch Dünnschichtchromatographie aufgetrennt und mit Bromthymolblau und Ammoniak angefärbt. Durch Vergleich der Flächen des Lecithinflecks mit dem Sphingomyelinleck wird die L/S-Ratio ermittelt.

3.3.1.2 Probenvorbereitung

Die Fruchtwasserproben wurden sofort nach der Punktion 3 Minuten bei 3000 U/min zentrifugiert. Es wurden nur Proben untersucht, die frei von Blut- und Mekoniumbeimengungen waren. Je 1 ml des Überstandes wurden in zwei Zentrifugenröhrchen pipettiert.

3.3.1.3 Extraktion

Zur Fällung der Proteine wurde 1 ml Methanol zugesetzt und 15 sec auf dem Vibrationsmixer geschüttelt. Zur Lösung der Phospholipide wurden anschließend 2 ml Chloroform zugefügt und nochmals 30 sec geschüttelt. Die Röhrchen wurden 10 min

im Eisschrank bei 4°C abgekühlt und danach in der Kühlzentrifuge bei 4°C 10min bei 3000 U/min zentrifugiert. Die in der unteren Phase gelösten Phospholipide wurden mit einer Pasteurpipette in ein Zentrifugenglas überführt. Das Lösungsmittel Chloroform wurde anschließend unter Stickstoffstrom bei 50°C im Wasserbad verdampft. Der Rückstand wurde im Eisbad abgekühlt und mit 1 ml eiskaltem Aceton zur Anreicherung der "surfactant-aktiven" Phospholipide gefällt. Die Probe wurde für 20 min bei 0°C inkubiert und anschließend das Aceton mit den gelösten Phospholipiden dekantiert. Der Niederschlag der gefällten "surfactant-aktiven" Lipide wurde in 0,01 ml Chloroform gelöst und das Zentrifugenglas 30 sec geschüttelt.

3.3.1.4 Dünnschichtchromatographie

Auf eine im Exsikkator aufbewahrte, mit Kieselgel beschichtete Dünnschichtchromatographieplatte (Merck 5721), wurde mittels einer Schablone 2,5 cm vom unteren Rand der Platte mit Bleistift die Auftragstelle für L/S-Standard und die Probe markiert. Je 0,005 ml einer Standardlösung L/S 1:1 bzw. L/S 2:1 wurden mittels einer Schmelzpunktkapillare in einem kleinen konzentrierten Fleck an den beiden äußeren Markierungen aufgetragen. Die gesamte Probenlösung wurde ebenfalls portionsweise mit einer Schmelzpunktkapillare auf die DC-Platte aufgebracht. Zur Trennung der Lipidfraktion wurde die Platte in einen mit Filterpapier ausgekleideten Behälter gestellt.

Der Behälter wurde zu Anfang der Bestimmung zur Sättigung der Gas-Phase mit einem Laufmittelgemisch (Chloroform-Methanol-Wasser, 130:50:8) angesetzt.

Sobald die Lösungsmittelfront bis 0,5 cm unter den oberen Plattenrand gelaufen war (nach ca. 1,5 - 2 Std.), wurde die DC-Platte aus dem Tank genommen, waagrecht gehalten und sofort mit Kaltluft trockengeblasen. Zur Anfärbung des Chromatogramms wurde die Platte mit Bromthymolblaulösung besprüht und anschließend im Trockenschrank bei 100°C getrocknet.

Nach dem Erkalten der DC-Platte wurde sie in eine Kammer mit Ammoniakdämpfen gestellt, wobei sich die Lecithin- und Sphingomyelinflecke tiefblau vor hellblauem Hintergrund darstellten.

3.3.1.5 Auswertung

Die Flächen der Lecithin- und Sphingomyelinflecke wurden mit Bleistift umfahren und mit einer Messlupe ausgemessen. Das Flächenverhältnis des schneller wandernden Lecithinflecks zum langsamer wandernden Sphingomyelinleck wurde als L/S-Quotient ausgedrückt.

Auf Abb.1 sind die Chromatogramme von Fruchtwasserproben einer Patientin aus der 33., 35. und 37. SSW dargestellt. Es ist deutlich zu erkennen, wie mit steigendem Gestationsalter der Lecithinfleck größer wird, während der Sphingomyelinleck unverändert bleibt.

Abb.2 zeigt die Chromatogramme von Fruchtwasserproben, die

bei Zwillingen mit getrennten Fruchtwasserhöhlen gewonnen wurden. Geminus I weist eine L/S-Ratio von 2,9 auf, der später geborene Geminus II eine L/S-Ratio von 1,9.

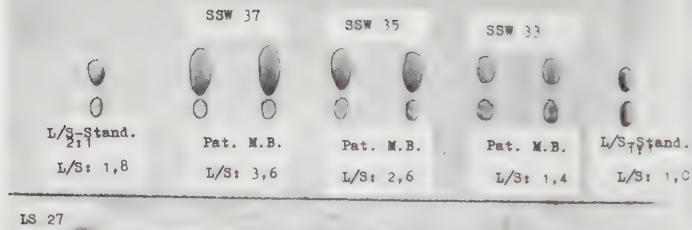


Abb.1 DC-Platte mit Standardproben und drei Fruchtwasserproben.

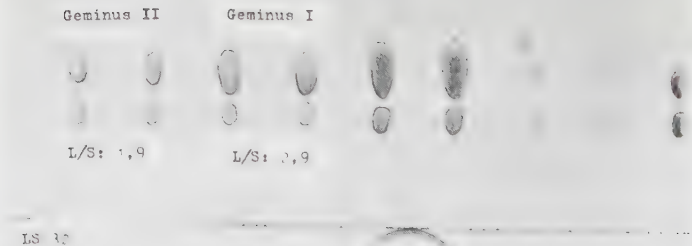


Abb.2 DC-Platte mit Chromatogrammen von Zwillingen mit eigenen Fruchtwasserhöhlen.

3.3.1.6 Präzision

Die Variationskoeffizienten wurden nach der Methode von SNEDECOR (75) ermittelt (Erläuterung s.S.25).

Der Intraassay- Variationskoeffizient, gemessen für eine L/S-Standardprobe 1:1, betrug 11,4 %, die Interassayvariation 15,8 %.

3.3.2 Methodik der Cortisolbestimmung

3.3.2.1 Prinzip

Der Gesamtcortisolgehalt im Fruchtwasser und im mütterlichen Plasma wurde mittels Radioimmunoassay gemessen. Für eine allgemeine Übersicht über Radioimmunoassays für Steroide sei hier auf eine Arbeit von NIESCHLAG und WICKINGS (61) verwiesen.

Verdünnte Plasma- und Fruchtwasserproben sowie Cortisolproben mit bekannter Konzentration (Standardproben) werden mit ^3H -markiertem Cortisol und an Zellulose gebundenem Antiserum zusammen inkubiert. Die Trennung der freien und an Antikörper gebundenen Fraktion erfolgt durch eine Zentrifugation. Die Radioaktivität des Überstandes wird gemessen und die Cortisolkonzentration der Proben an einer linearisierten Eichkurve abgelesen.

Da es sich um einen RIA mit spezifischem Antikörper handelt, bedarf es keiner zusätzlichen Vorreinigung der Probe (z.B. Extraktion mit Lösungsmittel oder chromatographische Trennung der Steroide).

3.3.2.2 Antiserum

Ein für Cortisol spezifisches Antiserum wurde in entsprechender Verdünnung angewandt. Die Kreuzreaktion des Antikörpers betrug für Cortisol 100 %, Cortexolon 45 %, Corticosteron 15 %, Progesteron 10 %, Cortison 2 %, Testosteron 0,5 % und Östriol 0,01 %.

3.3.2.3 Ansatz

Es wurden jeweils Doppelbestimmungen der Proben und Standardwerte durchgeführt. Pro Serie wurde eine Qualitätskontrollprobe mitgemessen. Die Eichkurve für jeden Assay wurde aus Standardlösungen, die 2,5, 5, 10, 20, 40 und 80 ng Cortisol pro ml enthielten, ermittelt.

Die Totalaktivität für 0,1 ml ^3H -Cortisol lag bei jedem Assay um 7000 Impulse/min. Die maximale Bindungskapazität betrug zwischen 35-50 %.

In fettfreie gereinigte Glasröhrchen wurden mittels einer Eppendorfpipette 0,01 ml der Plasmaprobe bzw. 0,01 ml Fruchtwasser überführt. Anschließend wurden von den Standardlösungen je 0,1 ml in die Glasröhrchen vorgelegt. Um eine homogene Suspension während der Zugabe zu erhalten, wurde die Immunosorbentlösung mit Hilfe eines Magnetrührers ständig durchmischt. Mit einer Eppendorfpipette wurde in alle Röhrchen, außer in die für die Totalaktivität, 0,1 ml Immunosorbent überführt. 0,1 ml ^3H -markiertes Cortisol wurde im nächsten Pipettierschritt in alle Röhrchen überführt. Danach wurde mittels Pufferlösung das Volumen eines jeden Röhrchens auf 1 ml aufgefüllt. (siehe Tabelle 1)

Reagentien Röhrchen	Anti- serum	^3H - Cortisol	Stan- dard	Plasma bzw. Fruchtwa	Puffer
T Totalaktivität	—	0,1	—	—	0,9
B_0 max. Bindung	0,1	0,1	—	—	0,8
Standard $S_1 - S_6$	0,1	0,1	0,1	—	0,7
unbek. Probe	0,1	0,1	—	0,01	0,8

Tab. 1 Pipettierschema des Cortisolassays
(Volumenangaben in ml)

3.3.2.4 Inkubation und Trennung

Nach Durchmischung auf dem Vibrationsmixer wurden die Proben 12 Std. bei 4°C inkubiert. Zur Trennung der freien und gebundenen Fraktion wurden alle Röhrchen am folgenden Tag 15 min bei 4°C und 3000 U/min zentrifugiert. Der Überstand wurde in Szintillationsgläschen dekantiert. 3 ml dioxan und 10 ml Szintillationsflüssigkeit wurden zugesetzt. Nach guter Durchmischung und Kühlung auf 4°C wurden die Proben in einem Flüssigkeitsszintillationszähler (LKB 1270) bis 10 000 Impulse/min gezählt.

3.3.2.5 Auswertung

Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte durch eine linearisierende LOGIT-LOG-Transformation (21) der Standarddaten und der unbekannten Proben mittels eines programmierbaren Hewlett-Packard 9810 A Tischrechners.

Die Standardkurve wurde vom Rechner über einen Plotter aufgezeichnet (Abb.3). Die Konzentrationen der Probenlösungen wurden von diesem Rechner automatisch ausgedruckt.

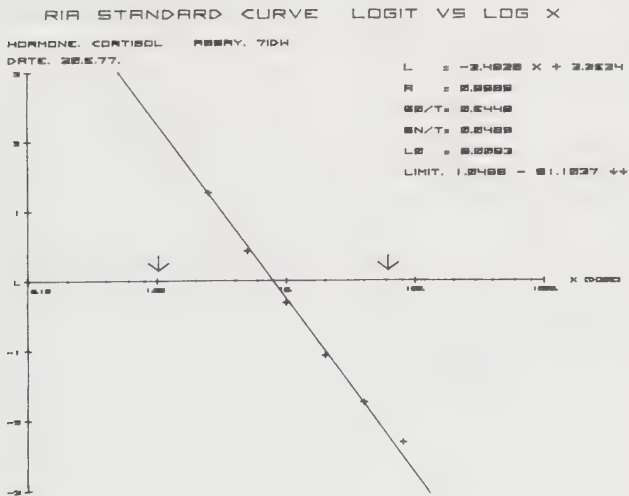


Abb. 3 Beispiel einer Radioimmunoassay (RIA)-Standardkurve für Cortisol.

3.3.2.6 Präzision

Für den verwendeten Reagentiensatz betrug die Intraassayvariation 4,2 %, die Interassayvariation 10,4 %.

3.3.3 Methodik der Östriolbestimmung

3.3.3.1 Prinzip

Unkonjugiertes Östriol wurde mittels RIA nach der Methode von GOEBEL und KUSS (32) bestimmt. Eine Modifikation des Extraktionsschrittes wurde nach KUSHINSKY und TANG (39) eingeführt. Nach Extraktion der Serumprobe wird ein Teil des eingedampften Extraktes mit Anti-Östriol C6-Konjugat-Antiserum und ^3H -Östriol inkubiert. Anschließend wird mit Dextran/Kohle freies vom antikörpergebundenen Steroid getrennt. Nach Zentrifugation wird die Radioaktivität des Überstandes gemessen und die Östriolkonzentration der Proben an einer linearisierten Eichkurve abgelesen.

3.3.3.2 Antiserum

Ein spezifisches Anti-Östriol-C6-Konjugat-Antiserum (42) wurde in einer Arbeitsverdünnung von 1 : 24 000 angewandt. Die Kreuzreaktion des Antikörpers betrug für Östriol 100 %, 16 epi-Östriol 17 %, Östetrol 35 %, 2-Hydroxy-Östriol < 2 %, 2-Methoxy-Östriol < 2 %, Östradiol-17 β 0,5 %, Östron < 0,1 %, 17 epi-Östriol < 0,01 %, Progesteron < 0,01 %.

3.3.3.3 Extraktion

Zur Bestimmung des unkonjugierten Östriols im mütterlichen Plasma wurden 0,2 ml der gut durchmischten Plasmaprobe in Glasröhrchen pipettiert und 20 sec lang mit 4 ml Essigsäure-äthylester-Hexan-Gemisch (3:2) extrahiert. Nach 5 min wurde

1 ml Extrakt in ein neues Glasröhrchen überführt und unter Stickstoff verdampft. Der Rückstand wurde in 1 ml Phosphatpuffer (1/15 molar, pH 7,4) gelöst und ca. 15 min stehen gelassen, um die Steroide aufzulösen.

3.3.3.4 Ansatz

Pro Serie wurde eine Qualitätskontrollprobe mitgemessen. Von den Plasmaproben wurden jeweils Doppelbestimmungen, von den Standardproben Dreifachbestimmungen durchgeführt. Die Eichkurve für jeden Assay wurde aus Standardlösungen, die 0,1, 0,25, 0,5 1 und 2 ng Östriol pro ml enthielten, ermittelt.

Als Totalaktivität von 0,2 ml der ^3H -markierten Östriolstammlösung wurden ca. 7000 Impulse/min gemessen. (Tab.2)

Reagentien Röhrchen	Anti- serum	^3H - Ostriol	Stan- dard	Albumin Lsg.	Proben- Lsg.	Puffer
T Totalakt.	—	0,2	—	—	—	0,3
B_0 max. Bindung	0,1	0,2	—	0,1	—	0,1
B_N unspez. Bindg.	—	0,2	—	0,1	—	0,2
Standard	0,1	0,2	0,1	0,1	—	—
unbek. Probe	0,1	0,2	—	0,1	0,1	—

Tab.2 Pipettierschema des Östriolassays (Volumenangabe in ml)

Nach dem Pipettierschema wurden die entsprechenden Röhrchen mit Albuminlösung, Standardlösung, ^3H -Östriollösung und Antiserum versetzt.

3.3.3.5 Inkubation und Trennung

Nachdem alle Röhrchen mit Pufferlösung auf ein Volumen von 0,5 ml aufgefüllt wurden, erfolgte eine Durchmischung auf dem Vibrationsmixer mit anschließender Inkubation 30 min bei Raumtemperatur und 30 min bei 4°C .

Die Trennung der freien und gebundenen Fraktion wurde mit dextranbeschichteter Kohlesuspension erzielt. Dazu wurden alle Röhrchen in ein Eiswasserbad gestellt und alle Proben, außer der für die Totalaktivität, mit 0,7 ml Kohle-Dextran-suspension aus der Repetierspritze versetzt und gut geschüttelt. In die Röhrchen für die Totalaktivität wurden 0,7 ml Phosphatpuffer pipettiert. 15 min später wurden alle Röhrchen 10 min bei 4°C und 3000 U/min zentrifugiert.

Der Überstand eines jeden Röhrchens wurde in Szintillationsgläsern dekantiert und 3 ml Dioxan sowie 10 ml Szintillationsflüssigkeit zugesetzt. Nach guter Durchmischung und Kühlung bei 4°C wurden die Proben in einem Flüssigkeitsszintillationszähler (LKB 1270) bis 10 000 Impulse/min ausgezählt.

3.3.3.6 Auswertung

Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte durch eine linearisierende LOGIT-LOG-Transformation (21) nach dem gleichen Verfahren, wie beim Cortisolassay (s.S.19) beschrieben.

Abb.4 zeigt das Beispiel einer Standardkurve eines Östriol-assays.

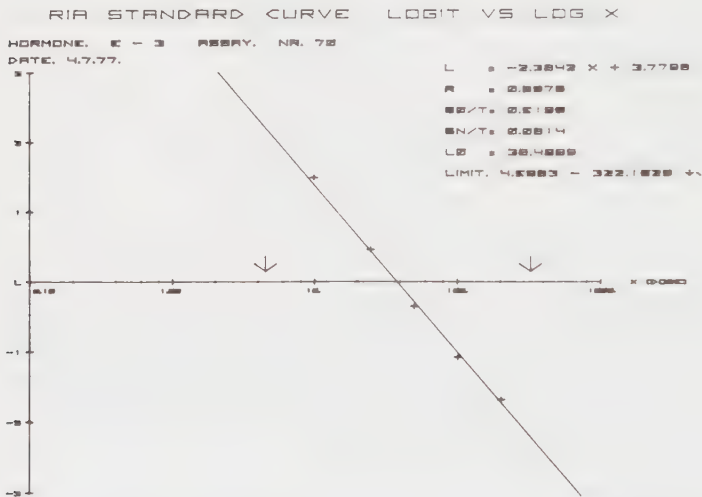


Abb. 4 Beispiel einer Radioimmunoassay (RIA) - Standardkurve für Östriol.

3.3.3.7 Präzision

Die Intraassayvariation für eine gepoolte Plasmaprobe betrug 4,2 %, die Interassayvariation 7,1 %.

3.3.4 Statistische Auswertung

Der Intraassay-Variationskoeffizient wurde anhand der Doppelwerte eines Assays nach der Methode von SNEDECOR (75) errechnet.

$$CV = \left[\frac{\sum d^2}{2n} \right]^{1/2} \quad \text{wobei} \quad d = \left[\frac{\text{höchster Zahlenwert}}{\text{niedrigster Zahlenwert}} - 1 \right] \cdot 100$$

CV = Variations-
koeffizient

n = Paarzahl

Der Interassay-Variationskoeffizient wurde aus den Mittelwerten und Standardabweichungen der mitlaufenden Qualitätskontrollproben ermittelt.

Die Regressionsgeraden wurden mit Hilfe des "gepaarten t-Tests" unter Verwendung eines programmierbaren Tischrechners Hewlett-Packard 9810 A ermittelt.

Die Irrtumswahrscheinlichkeit wurde aus Signifikanztabellen abgelesen.

4. Ergebnisse

4.1 L/S-Ratio und Gestationsalter

Der Zusammenhang zwischen L/S-Ratio und Gestationsalter ist in Abb.5 dargestellt. Mit Ausnahme von drei Werten findet sich bei allen Proben nach der 36.Schwangerschaftswoche eine $L/S\text{-Ratio} > 2$. Eine frühe Lungenreife zeigen die Patientinnen mit Rh-Inkompatibilität. Hier liegt bei der Mehrzahl der Fälle die L/S-Ratio schon ab der 33. Schwangerschaftswoche über 2. (Abb.5)

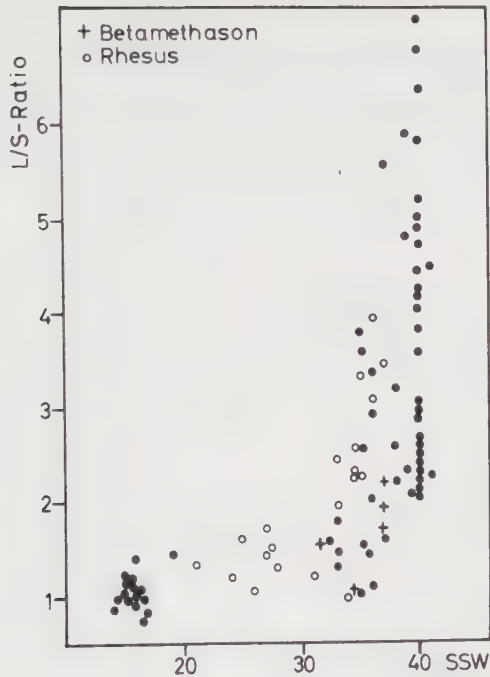


Abb.5 L/S-Ratio im Fruchtwasser im Vergleich zur Schwangerschaftswoche (SSW), $n = 91$. Die Kreuze indizieren Patientinnen, die frühestens einen Tag vorher Betamethason erhielten, die offenen Kreise Fälle mit Rhesus-Inkompatibilität.

4.2 Fruchtwassercortisol und Gestationsalter

Einen signifikanten Anstieg des Fruchtwassercortisolgehaltes mit steigender Schwangerschaftswoche zeigt Abb.6 ($n = 86$, $r = 0,711$, $p < 0,01$). Proben von Patientinnen mit Rhesus-Inkompatibilität und Betamethasonbehandelte weisen niedrigere Cortisolspiegel auf als die übrigen. (Abb.6)

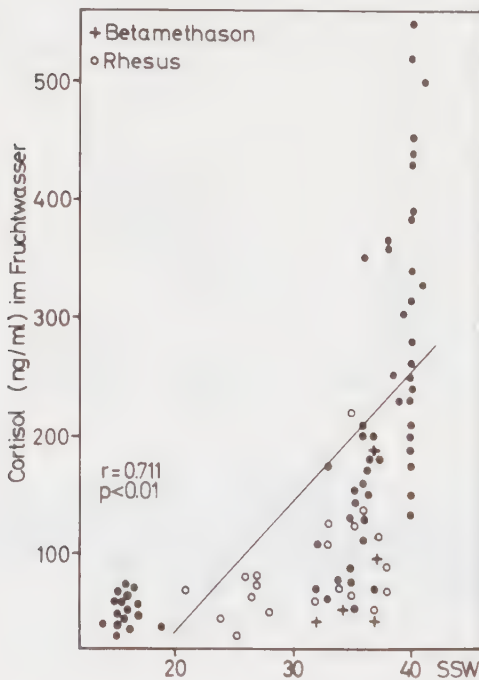


Abb.6 Cortisol im Fruchtwasser im Vergleich zur Schwangerschaftswoche ($n = 86$). Die Betamethason behandelten Fälle sind in der Berechnung unberücksichtigt.

4.3 Plasmacortisol und Gestationsalter

Auf Abb.7 ist der signifikante Anstieg der Plasmacortisolkonzentration mit zunehmendem Gestationsalter zu erkennen ($n = 65$, $r = 0,625$, $p < 0,01$). Betamethasonbehandelte Patientinnen zeigen einen erniedrigten Plasmacortisolwert, während der Cortisolgehalt bei Rhesus-Inkompatibilität im Bereich der übrigen Proben liegt. (Abb.7)

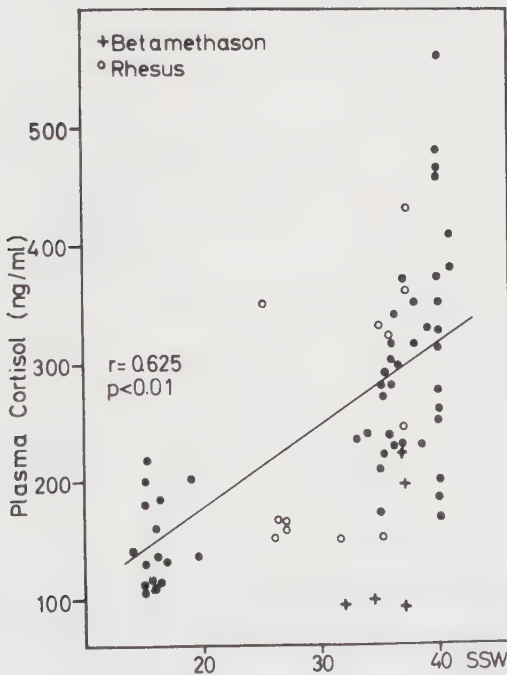


Abb.7 Plasmacortisol der Mutter im Vergleich zur Schwangerschaftswoche ($n = 65$). Die betamethasonbehandelten Fälle blieben in der Berechnung unberücksichtigt.

4.4 Plasmaöstriol und Gestationsalter

Auch der Plasmaöstriolspiegel der Mutter steigt im Verlauf der Schwangerschaft. (Abb.8) ($n = 65$, $r = 0,742$, $p < 0,01$) Patientinnen, denen Betamethason verabreicht wurde, und Fälle mit Rhesusinkompatibilität zeigen keinen deutlichen Unterschied gegenüber den übrigen Proben.

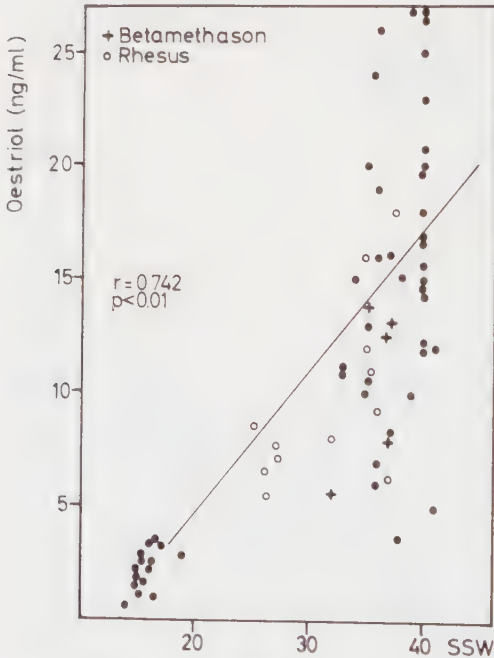


Abb.8 Plasmaöstriol der Mutter im Vergleich zur Schwangerschaftswoche ($n = 65$). Die mit Betamethason behandelten Fälle blieben in der Berechnung unberücksichtigt.

4.5 Beziehung zwischen L/S-Ratio und Fruchtwassercortisol

Es besteht eine signifikante Korrelation zwischen der L/S-Ratio und dem Fruchtwassercortisolgehalt ($n = 86$, $r = 0,701$, $p < 0,01$) (Abb.9)

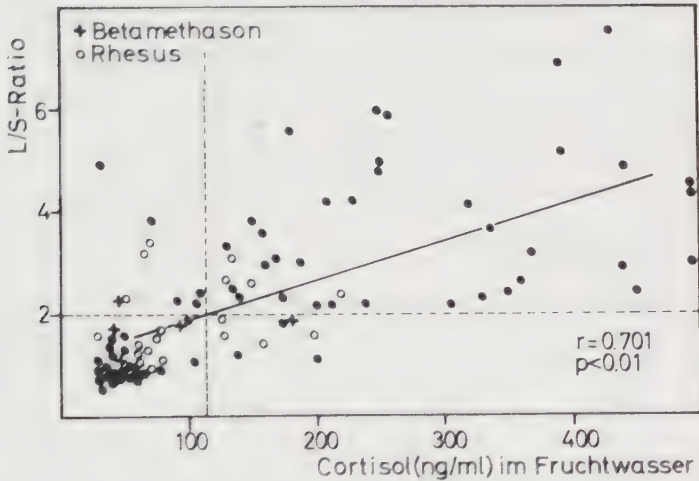


Abb.9 Beziehung zwischen Cortisol im Fruchtwasser und L/S-Ratio ($n = 86$).

Die Regressionsgerade schneidet die bei L/S-Ratio 2 (= reife Lunge) zur x-Achse gezogene Parallele im Punkte 117 ng/ml Cortisol im Fruchtwasser. Bei Annahme dieses Punktes als kritischen Grenzwert für die Voraussage einer reifen Lunge befinden sich auf Abb.10 im linken oberen Quadranten die falsch negativen Ergebnisse (d.h. L/S-Ratio ≥ 2 , Cortisolge-

halt < 117 ng/ml), im rechten unteren Quadranten die falsch positiven Ergebnisse (d.h. L/S-Ratio < 2 , Cortisolgehalt > 117 ng/ml).

Für die Berechnung der prozentualen Verteilung schieden die Proben 20.SSW und die von Patientinnen, welche mit Betamethason behandelt wurden, aus. 11 % falsch negative Ergebnisse (8 von 70), 10 % falsch positive (7 von 70) und 79 % richtige Ergebnisse (55 von 70) wurden ermittelt. (Abb.10)

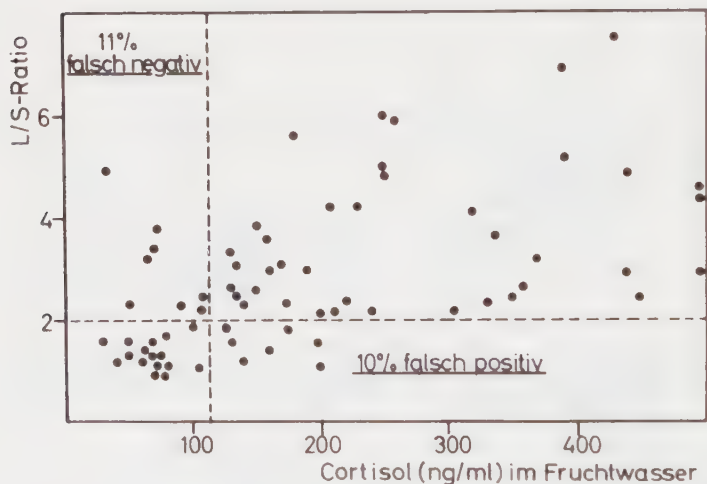


Abb.10 Prozentuale Verteilung der Ergebnisse beim Fruchtwassercortisolgehalt von 117 ng/ml als Grenzwert.

4.6 Beziehung zwischen L/S-Ratio und Plasmacortisol

Zwischen Plasmacortisolgehalt und L/S-Ratio besteht ebenfalls eine signifikante Korrelation ($n = 65$, $r = 0,631$, $p < 0,01$) (Abb.11). Hier schneidet die Regressionsgerade die x-Achse bei L/S-Ratio = 2 im Punkt 197 ng/ml. Bei Ausschluß der gleichen Proben wie oben ergaben sich folgende prozentualen Werte:

Bei Annahme von 197 ng/ml Cortisol im Plasma als kritischem Grenzwert wurden 6 % falsch negative (3 von 49), 16 % falsch positive (8 von 49) und 78 % richtige (38 von 49) Ergebnisse ermittelt. (Abb.12)

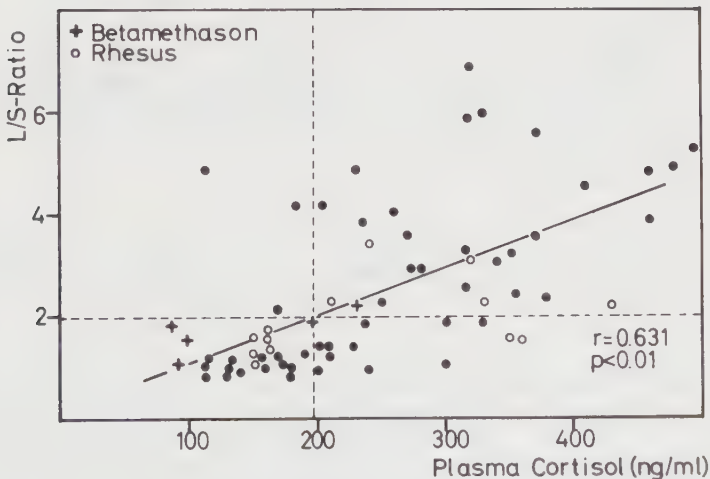


Abb.11 Beziehung zwischen Plasmacortisol und L/S-Ratio ($n = 65$).

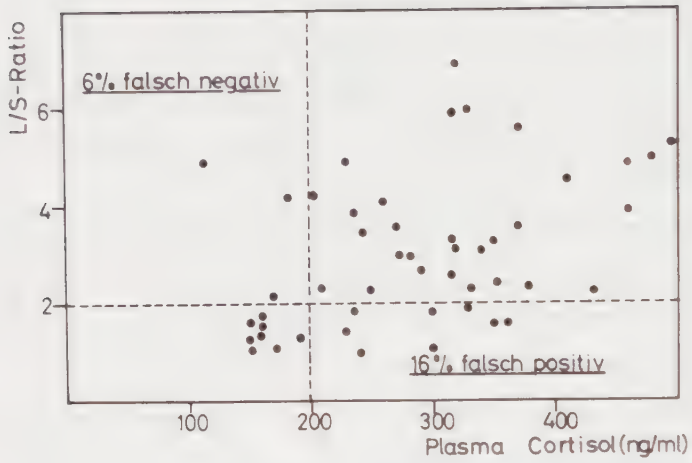


Abb.12 Prozentuale Verteilung der Ergebnisse beim Plasma-cortisolgehalt von 197 ng/ml als Grenzwert.

4.7 Beziehung zwischen L/S-Ratio und Plasmaöstriolgehalt

Den signifikanten Zusammenhang zwischen Plasmaöstriol und L/S-Ratio zeigt Abb.13 ($n = 65$, $r = 0,554$, $p < 0,01$). Die Regressionsgerade schneidet die x-Achse bei L/S-Ratio = 2 im Punkt 10,2 ng/ml Östriol.

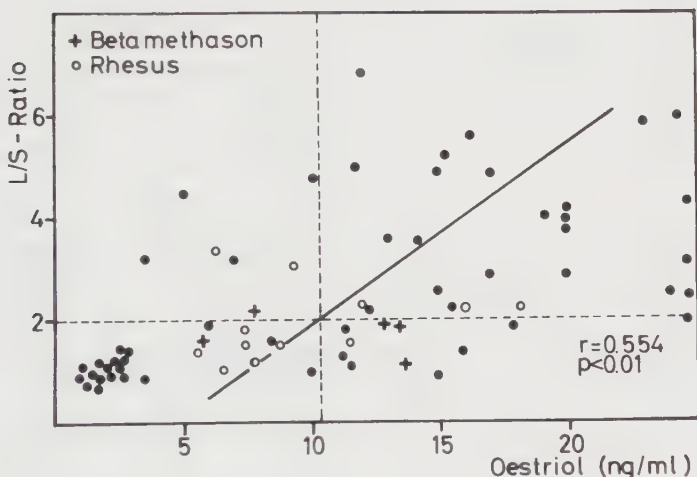


Abb.13 Beziehung zwischen Östriol im Plasma der Mutter und L/S-Ratio ($n = 65$)

Bei Ausschluß der gleichen Proben wie oben wurden folgende prozentualen Verteilungen errechnet:

Bei Annahme von 10,2 ng/ml Östriol als kritischem Grenzwert für die Lungenreife befinden sich im linken oberen Quadranten 12 % falsch negative (6 von 49) Ergebnisse (d.h. L/S-Ratio > 2,

Östriolgehalt $< 10,2$ ng/ml), im rechten unteren Quadranten
17 % falsch positive (8 von 49) Ergebnisse (d.h. L/S-Ratio < 2
Östriolgehalt $> 10,2$ ng/ml). (Abb.14)
71 % richtige Ergebnisse (35 von 49) wurden ermittelt.

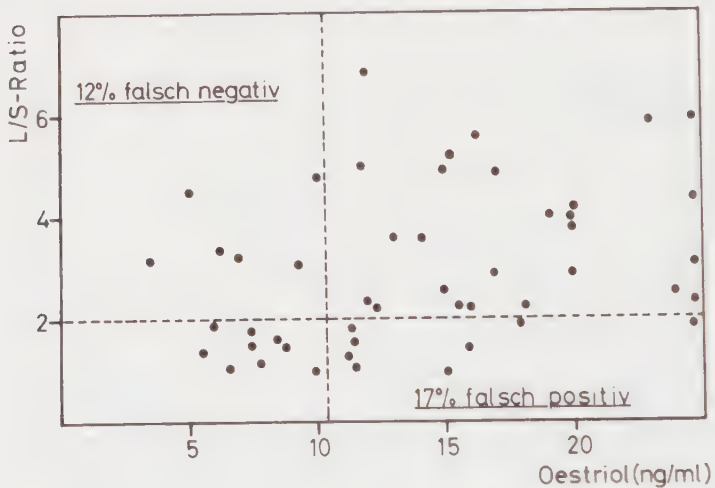


Abb.14 Prozentuale Verteilung der Ergebnisse beim Plasma-
östriolgehalt von 10,2 ng/ml als Grenzwert.

5. Diskussion

5.1 Methodische Probleme

5.1.1 Probenvorbereitung

Es wurde bei der Bestimmung der L/S-Ratio darauf geachtet, daß nur Fruchtwasser untersucht wurde, das frei von Kontamination mit Blut, Mekonium und Vaginalsekret war denn diese Beimengungen führen zu einer verfälschten L/S-Ratio. GIBBSON et al. (27) zeigte, daß bereits 0,02 ml mütterliches Blut pro ml Fruchtwasser den L/S-Quotienten um den Betrag 1 erniedrigen. Die Phospholipide des Mekoniums indizieren eine falsch hohe L/S-Ratio (38).

Fruchtwasser, das aus der Vagina gewonnen wird, enthält Vaginalsekret, Bakterien und abgeschilfertes Epithel, was zu einer nicht verwertbaren L/S-Ratio führt (30).

Nach der Fruchtwassergewinnung muß die Probe unverzüglich weiterverarbeitet oder nach Abtrennung der zellulären Bestandteile durch Zentrifugation bei -20°C eingefroren werden. Aufbewahrung bei Zimmertemperatur hat eine Zersetzung der Phospholipide durch Fruchtwasserenzyme zur Folge ((38), (30)). Wiederholtes Auftauen und Einfrieren hat keinen Einfluß auf die L/S-Ratio ((72), (34)).

Über die Auswirkung der Zentrifugation der Fruchtwasserproben auf die Phospholipidzusammensetzung berichten Arbeiten von BADHAM et al. (3), ABRAMOVICH et al. (1) und LINDBACK et al. (47).

5.1.2 L/S-Ratio-Bestimmung

Das Ziel der von GLUCK angewandten Zentrifugation ist die Abtrennung der zellulären Bestandteile, die ja ebenfalls Phosphatide enthalten und damit die L/S-Ratio verfälschen könnten. Der L/S-Quotient macht eine Aussage über die fetale Surfactantproduktion, wobei andere Phosphatide, die auch im Fruchtwasser enthalten sind, nicht in die Bestimmung eingehen sollen. Der Anreicherung der "surfactant aktiven" Lipide dient auch der Fällungsschritt mit kaltem Aceton. Hierbei wird "surfactant aktives" Lecithin, alles Sphingomyelin und einige andere Lipide gefällt.

GLUCK et al. (30) konnte zeigen, daß gerade in der frühen Schwangerschaft der extrapulmonale Anteil des Lecithins besonders hoch ist, was sich bei der Bestimmung der L/S-Ratio ohne Acetonfällung in einem falsch hohen Quotienten ausdrückt. Der Anteil des Lecithins ist der Größe der L/S-Ratio direkt proportional. Bei reifer Lunge (L/S-Ratio ≥ 2) wird nahezu immer mehr als 50 % des Gesamtlecithins durch Aceton gefällt.

Der Grenzwert von 2 für die L/S-Ratio-Bestimmung gilt nur für einen Analysengang mit Acetonfällung. Untersucher, die diesen Trennungsschritt ausließen, fanden Grenzwerte, die deutlich von 2 verschieden sind (64).

Für die Bestimmung der L/S-Ratio wählte ich das von BORER et al. (10) beschriebene Verfahren. Im Unterschied zur Originalmethode von GLUCK et al. (28) wird hier das Chromatogramm mit Bromthymolblau und Ammoniak angefärbt.

Als weiterer Unterschied ersetzt eine planimetrische Ausmessung der Farbflecke hier die reflexdensitometrische Auswertung. Eine enge Übereinstimmung der ermittelten Ergebnisse mit beiden Methoden (im Bereich zwischen 0,5 und 3) wurde von GLUCK et al. (30), MUELLER-TYL et al. (51), PARKINSON et al. (66) und ROUX et al. (69) gefunden. Bei $L/S\text{-Quotienten} > 3$ besteht keine enge Korrelation zwischen beiden Methoden mehr (30).

Für die klinische Fragestellung interessiert jedoch vor allem der Bereich zwischen L/S-Ratio 0,5 und L/S-Ratio 2. Da hier eine enge Korrelation zwischen reflexdensitometrisch und planimetrisch ermittelten Werten besteht, wird die Methode von BORER et al. (10) nahezu allen klinischen Anforderungen gerecht.

5.1.3 RIA Cortisol

Bei der Bestimmung des Cortisolgehaltes im Fruchtwasser wurde bewußt auf eine chromatographische Trennung der Steroide, die die Spezifität des Verfahrens erhöht hätte, verzichtet. Es war beabsichtigt, einen Analysengang zu wählen, der im Hinblick auf die Praktikabilität der Bestimmung der L/S-Ratio vergleichbar ist.

Die ermittelten Cortisolwerte liegen in der gleichen Größenordnung wie die anderer Untersucher ((22), (74), (81)), die ebenfalls keine Chromatographie vornahmen. Bei chromatographischer Trennung der Steroidfraktion wurden allerdings niedrigere Cortisolkonzentrationen gefunden ((25), (78)).

5.1.4 Auswahlkriterien für das Probenkollektiv

Zur Berechnung der prozentualen Verteilung der Ergebnisse wurden Proben, die vor der 20.SSW gewonnen wurden, ausgeschlossen, weil sich in diesem Zeitraum die Indikation zur Lungenreifebestimmung praktisch nicht stellt und die L/S-Ratio immer < 2 ist.

Die 5 Proben von Patientinnen, die mit Betamethason behandelt wurden, blieben ebenfalls unberücksichtigt, da durch die exogene Zufuhr von Glucocorticoiden der Cortisol- und Östriolspiegel erwartungsgemäß verändert wird, so daß diese Parameter keinen Rückschluß mehr auf den fetalen Zustand erlauben.

5.2 L/S-Ratio, Cortisol und Östriol als Parameter zur Bestimmung der fetalen Lungenreife

Die Auswertung der Beziehung zwischen Cortisolgehalt im Fruchtwasser und L/S-Ratio brachte, bezogen auf die L/S-Ratio, einen Prozentsatz von 79 % richtig ermittelter Werte gegenüber 10 % falsch positiven und 11 % falsch negativen Ergebnissen (Abb.10).

Die falsch negativen Ergebnisse sind nicht von entscheidender Bedeutung, da hieraus keine folgenschweren klinischen Konsequenzen gezogen werden. Ohne geburtshilfliche Maßnahmen dürfte die Bestimmung im Regelfall nach einigen Tagen wiederholt werden. Verließe man sich jedoch allein auf die Cortisolbestimmung im Fruchtwasser, so könnten sich die 10 % falsch positiver Ergebnisse folgenschwer auswirken, nämlich dann, wenn auf Grund der Werte über der kritischen Grenze eine Geburt oder primäre Sectio eingeleitet würde, obwohl die Lungenreife noch nicht erreicht ist.

Bei der vorliegenden Untersuchung trat bei keinem Säugling ein Atemnotsyndrom auf. Diese Tatsache ist auch darauf zurückzuführen, daß bei diesem Kollektiv die Geburt nicht eingeleitet wurde, bevor der kritische Grenzwert für die Lungenreife, $L/S\text{-Ratio} > 2$, erreicht war. Daher stellt diese Studie in erster Linie einen labortechnischen Vergleich zwischen der L/S-Ratio, Cortisol und Östriol dar.

Nach Angaben von BORER et al. (10) bietet die Bestimmung der L/S-Ratio eine 97 %ige Treffsicherheit bezüglich der Voraussage der Lungenreife. Zu ähnlichen Ergebnissen führt eine Studie von DONALD et al. (19). Bei 347 L/S-Ratio-Bestimmungen nach der Methode von BORER und Werten ≥ 2 trat nur in 3,7 % der Fälle ein Atemnotsyndrom auf.

Beim Vergleich zwischen L/S-Ratio und Plasmacortisolgehalt der Mutter fanden sich, bezogen auf die L/S-Ratio, 16 % falsch positive Ergebnisse (Abb.12). Dieser Parameter ist demnach noch weniger geeignet zur Diagnose der fetalen Lungenreife.

Die schwächste Korrelation zur L/S-Ratio zeigt der Plasma-Östriolspiegel ($r = 0,554$; Abb.13), wohingegen die Korrelation zwischen SSW und Östriolgehalt wesentlich enger ist ($r = 0,742$; Abb.8). Wie eingangs zitiert, wird die Surfactantproduktion für eine eigene fetale Leistung gehalten. Die Östriolsynthese dagegen ist von der Plazentafunktion sowie von der fetalen Nebennierenrinde und der fetalen Leber abhängig. Die von der fetalen Nebennierenrinde gelieferte Vorstufe Dehydroepiandrosteronsulfat (DHEA-S) wird in der fetalen Leber an C-Atom 16 hydroxyliert und in der Plazenta zu Östriol synthetisiert ((41), (44), (16)) (Abb.15).

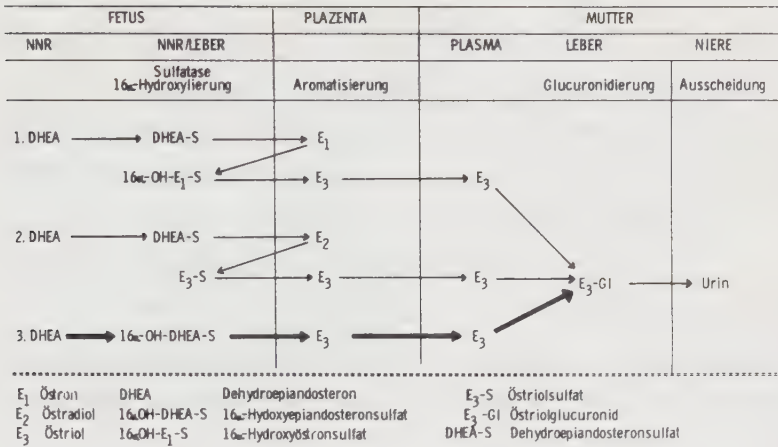


Abb.15 Östriolsynthesewege innerhalb der fetoplazentaren Einheit (modifiziert nach NELSON (58)).

Die Bereitstellung der Östriolvorstufe ist bei fetaler Gefährdung vermindert und endet im intrauterinen Fruchttod ((30), (33)). Dieser biochemische Parameter läßt nur eine indirekte Aussage zu, wohingegen die Bestimmung der Fruchtwasserlipide eine direkte Aussage über die Lungenreife erlaubt. Die Beteiligung der verschiedenen Organsysteme in den Kompartimenten Fetus, Plazenta und Mutter an der Bildung von Östriol und der Einfluß verschiedener exogener und endogener Faktoren auf diesen Parameter sind wohl die Ursache der schlechten Korrelation zwischen Lungenreife und Östriolspiegel.

Die Bestimmung der Konzentration einer Substanz im Fruchtwasser zur Beurteilung der fetalen Reife eignet sich um so weniger, je ungehinderter deren Austausch zwischen den verschiedenen Kompartimenten stattfindet (20).

Ein idealer Parameter zur fetalen Reifebestimmung wäre demnach ein stabiler Metabolit des fetalen Kompartiments, der - einmal in das Fruchtwasser ausgeschieden - dieses nicht mehr verläßt. Diese Forderung erfüllt am besten die L/S-Ratio, da die Phospholipide fetalen Ursprungs sind (9), Bestandteile des Surfactant darstellen, die zur Ausbildung der Lungenreife notwendig sind (28) und die Plazenta nicht passieren können (68).

Cortisol im Fruchtwasser ist zu $\frac{3}{4}$ fetalen Ursprungs und hat über die Surfactantstimulation auch Anteil am Lungenreifungsprozeß ((53),(7)). Plasmacortisol der Mutter dagegen wirkt über mehrere Zwischenschritte auf die Lungenreife. Durch die hohe 11 β -Dehydrogenaseaktivität der Plazenta wird mütterliches Cortisol bei der Passage zu Cortison oxidiert, das biologisch inaktiv ist. Erst wenn die Sättigungskinetik des Enzyms überschritten ist, kann mütterliches Cortisol den Lungenreifungsprozeß induzieren (52). Außerdem bewirken exogene Corticosteroidgaben und Streßfaktoren eine Änderung des mütterlichen Cortisolspiegels ((60) (45)), so daß dieser Parameter wesentlich unzuverlässiger ist als die Fruchtwassercortisolbestimmung.

Die größte Anfälligkeit für Störfaktoren zeigt der Östriolspiegel. Als wichtigste Einflußfaktoren gelten heute: exogene Zufuhr von Corticosteroiden, Leberfunktionsstörungen der Mutter mit Auswirkung auf den enterohepatischen Kreislauf, Nierenfunktionsstörungen und placentare Störungen wie kongenitale Enzymdefekte und erworbene Störungen, z.B. Gestose, Diabetes, Rh-Inkompatibilität, Minderdurchblutung (43). Bei der heute angewandten Induktion der Lungenreife mit Corticosteroiden kommt es zu einer zeitweisen Suppression der fetalen Nebennierenrindenaktivität, woraus eine verminderte Synthese von Öströgenpräkursoren resultiert, was wiederum eine Reduktion der Östriolbiosynthese in der Plazenta zur Folge hat ((73); Abb.15).

Die Tatsache, daß bei den eigenen 5 untersuchten Fällen der Östriolspiegel nicht deutlich von den übrigen Werten verschieden ist (Abb.8), ist darauf zurückzuführen, daß es sich hierbei um Einzelwerte handelt, die auch nicht alle am gleichen Tag nach der Betamethasonmedikation gewonnen wurden. Für die Beurteilung der fetalen Gefährdung während einer Risikoschwangerschaft ist nicht ein einmaliger Wert entscheidend, sondern die Verlaufskurve bei kurzfristigen Kontrollen (32).

NEGULESCU et al. (56) konnte zeigen, daß nach Induktion der Lungenreife mit Betamethason der Abfall des Östriolspiegels bei normalen Schwangerschaften ausgeprägter war als bei komplizierten Fällen. Die Östriolwerte erreichten bei normalen

Schwangerschaften den Basalwert nicht vor 7 Tagen nach der Injektion im Gegensatz zu 7 Tagen bei pathologischen Fällen.

Der niedrige Cortisolgehalt im Fruchtwasser (Abb.6) und im Plasma der Mütter (Abb.7), denen Betamethason verabreicht wurde, findet seine Erklärung in einer Suppression der endogenen Cortisolsynthese ((23), (77), (82), (83)). Kürzlich veröffentlichte Untersuchungen wiesen Dexamethason bzw. Betamethason im mütterlichen Plasma, Umbilicalarterie, Umbilicalvene und in der Amnionflüssigkeit nach ((2), (6), (83)). Damit war der Beweis erbracht, daß Dexa- bzw. Betamethason, der Mutter verabreicht, auch den fetalen Kreislauf erreicht. Der Nachweis von cytoplasmatischen Rezeptoren für Glucocorticoide in der Lunge des menschlichen Feten und des Neugeborenen und die hohe Bindungsrate für Dexamethason wurde von BALLARD et al. (4,5) erbracht.

Da die relative Glucocorticoidwirkung von Dexa- und Betamethason, verglichen mit Cortisol, 30-fach stärker ist (79), wird die vielfach beschriebene Beschleunigung der fetalen Lungenreife nach Stimulation mit Glucocorticoiden verständlich. Störungen der Plazentafunktion, wie sie bei mütterlichen Stoffwechselerkrankungen, Infektionen und Intoxikationen, Rh-Inkompatibilität, Schwangerschaftstoxikose, chronischer Niereninsuffizienz, Nikotinabusus, chronischen Sauerstoffmangel oder Mangelernährung vorkommen (71), bewirken letztlich eine Minderdurchblutung der Plazenta, aus der eine

Hypoxie mit nachfolgender metabolischer Acidose resultiert (67). Auf diese "intrauterine Stresssituation" reagiert die fetale Nebenniere mit einer vermehrten Ausschüttung von Corticosteroiden ((26), (62), (70)).

Für diesen Mechanismus sprechen auch Befunde anderer Untersuchter, die bei Schwangerschaftskomplikationen wie EPH-Gestose, chronisch-renaler Hypertonie, Diabetes mellitus, rezidivierenden Plazentablutungen, Plazentainsuffizienz und vorzeitigem Blasensprung eine L/S-Ratio > 2 vor der 36.SSW fanden ((29), (30), (46), (50)). Die geringe Cortisolkonzentration im Fruchtwasser bei Rh-Inkompatibilität (s.Abb.6) im letzten Trimeon könnte durch einen Verdünnungseffekt erklärt werden, da eine Erythroblastose oft mit einem Hydramnion kombiniert ist (67).

Die zwischen der 21.-30. SSW ausgeführten Amniozentesen dienten primär der Bilirubinbestimmung und der Spektralphotometrie des Fruchtwassers. Hier fehlten bei der vorliegenden Untersuchung Vergleichsproben unkomplizierter Schwangerschaften, weil keine Fruchtblasenpunktion ohne zwingende klinische Indikation vorgenommen wurde. Von anderen Untersuchern wurden in diesem Zeitraum bei Rh-Inkompatibilität, im Vergleich zum Normalkollektiv, höhere Cortisolwerte gemessen, während sie bei Proben nach der 30. SSW ebenfalls niedrigere Konzentrationen fanden (26).

5.3 Schlußfolgerung

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen einen signifikanten Zusammenhang zwischen L/S-Ratio und Fruchtwassercortisol, Plasmacortisol und Plasmaöstriol. Die engste Korrelation, und damit den geringsten Anteil an falschen Ergebnissen bezogen auf die L/S-Ratio, brachte die Fruchtwassercortisolbestimmung mit 10 % falsch positiven und 11 % falsch negativen Werten. In der Reihenfolge der Korrelationen folgt der Plasmacortisolspiegel der Mutter. Hier war die Aufteilung 16 % falsch positiv und 6 % falsch negativ. Die höchste Quote falscher Ergebnisse zeigte der Vergleich zwischen L/S-Ratio und Plasmaöstriolgehalt. 17 % falsch positive und 12 % falsch negative Ergebnisse wurden ermittelt.

Demnach stellt die Bestimmung der L/S-Ratio, die in der hier durchgeführten methodischen Modifikation nur in insgesamt 3 % der Fälle falsche Werte liefert (10), den besseren diagnostischen Parameter zur pränatalen Diagnose der fetalen Lungenreife dar.

6. Zusammenfassung

Der Lecithin/Sphingomyelin-Quotient (L/S-Ratio) aus dem Fruchtwasser ist in den letzten Jahren ein wichtiger Parameter zur Bestimmung der fetalen Lungenreife geworden und hat dazu beigetragen, die Häufigkeit des Atemnotsyndroms bei Neugeborenen zu verringern.

Da Glucocorticoide einen entscheidenden reifungsfördernden Einfluß auf die fetale Lunge ausüben, könnte auch ihre Bestimmung von diagnostischem Wert sein. Daher wurde in der vorliegenden Studie der Zusammenhang zwischen der L/S-Ratio und Cortisolgehalt im Fruchtwasser ($n = 91$) untersucht; ebenso wurde die Abhängigkeit von L/S-Ratio, Cortisolgehalt und Östriolgehalt im mütterlichen Venenblut ($n = 70$) bei normalen und komplizierten Schwangerschaften ermittelt.

Eine signifikante Korrelation zwischen Gestationsalter und Cortisol im Fruchtwasser ($r = 0,711$, $p < 0,01$), Cortisol im mütterlichen Plasma ($r = 0,625$, $p < 0,01$) und Östriol im mütterlichen Plasma ($r = 0,742$, $p < 0,01$) wurde gefunden. Ebenfalls bestand eine signifikante Korrelation zwischen L/S-Ratio und Fruchtwassercortisolgehalt ($r = 0,701$, $p < 0,01$). Verglichen mit der L/S-Ratio wurden aber hier 10 % falsch positive und 11 % falsch negative Ergebnisse ermittelt. Die signifikante Korrelation zwischen L/S-Ratio und Cortisolgehalt im mütterlichen Plasma ($r = 0,631$, $p < 0,01$) ergab einen Prozentsatz von 16 % falsch positiven und 6 %

falsch negativen Werten. Den größten Anteil an falschen Ergebnissen und die schlechteste Korrelation ($r=0,554$, $p<0,01$) zeigte die Beziehung zwischen L/S-Ratio und Plasmaöstriolgehalt. Hier wurden 17 % falsch positive und 12 % falsch negative Ergebnisse gefunden.

Der hohe Prozentsatz an falschen Ergebnissen, vor allem an falsch positiven Ergebnissen, führt zu dem Schluß, daß die Bestimmung von Cortisol oder Östriol, verglichen mit der L/S-Ratio, zur Diagnose der fetalen Lungenreife keinen Vorteil bringt. Vor allem die Anfälligkeit dieser Parameter auf exogene und endogene Einflüsse ist für die mangelnde diagnostische Schärfe verantwortlich.

Die Bestimmung der L/S-Ratio, die in nur insgesamt 3 % der Fälle zu falschen Ergebnissen führt, behält demnach ihren überlegenen Stellenwert als Parameter zur pränatalen Diagnose der fetalen Lungenreife.

7. Literaturverzeichnis

1. ABRAMOVICH, D.R. The origin of amniotic fluid
KEEPING, J.D. lecithin. Brit. J. Obstet. Gynec.
THOM, H. 82, (1975), 204-207.
2. ANDERSON, A.B.M. Placental transfer and metabolism
GENNSER, G. of betamethasone in human preg-
JEREMY, J.Y. nancy. Obstet. Gynec. 49, (1977),
OHRLANDER, St. 471-474.
SAYERS, L.
TURNBULL, A.C.
3. BADHAM, L.P. Critical assessment of phospholi-
WORTH, H.G.J. pid measurement in amniotic fluid.
 Clin. Chem. 21, (1975), 1441-1447.
4. BALLARD, Ph.L. Cytoplasmic receptor for gluco-
BALLARD, R.A. corticoid in lung of the human
 fetus and neonate. J. clin. Invest.
 53, (1974), 477-486.
5. BALLARD, Ph.L. A radioreceptor assay for evalua-
CARTER, J.P. tion of the plasma glucocorticoid
GRAHAM, B.S. activity of natural and synthetic
BAXTER, J.D. steroids in man. J. clin. Endocrin.
 Metab. 41, (1975), 290-304.
6. BALLARD, Ph.L. Glucocorticoid levels in maternal
GRANBERG, P. and cord serum after prenatal beta-
BALLARD, R.A. methasone therapy to prevent res-
 piratory distress syndrom. J. clin.
 Invest. 56, (1975), 1548-1554.
7. BEITINS, I.Z. The metabolic clearance rate,
BAYARD, F. blood production, interconversion
ANGERS, I.G. and transplacental passage of
KOWARSKI, A. cortisol and cortisone in pregnancy
MIGEON, C.J. near term. Ped. Res. 7, (1973)
 509-519.

8. BERG, D. Schwangerschaftsberatung und Perinatologie. 2.Auflg., Stuttgart, Thieme, 1976.
9. BIGGS, I.S.G. Evidence that fetal lung fluid and phospholipid pass into amniotic fluid in late human pregnancy. J. Obstet. Gynec. Brit. Cwlth. 80, (1973), 125-129.
GRAFFNEY, T.C.
McGEORGE, H.M.
10. BORER, R.C. Prenatal prediction of the respiratory distress syndrom (RDS). Pediatr. Res. 5, (1971), 655.
GLUCK, L.
FREEMANN, R.K.
KULOVICH, M.V.
11. CAMPICHE, P.M. An electron microscope study of the fetal development of human lung. Pediatrics 32, (1963), 976-994.
GAUTIER, A.
HERNANDEZ, E.J.
REYMOND, A.
12. CASPI, E. Changes in amniotic fluid lecithin-sphingomyelin ratio following maternal dexamethasone administration. Amer. J. Obstet. Gynec. 122, (1975), 327-331.
SCHREYER, P.
WEINRAUB, Z.
BUKOVSKY, I.
TAMIR, I.
13. CHATTORAJ, S.C. The significance of urinary free cortisol and progesterone in normal and anencephalic pregnancy. Amer. J. Obstet. Gynec. 124, (1976), 848-854.
TURNER, A.K.
PINKUS, J.L.
CHARLES, D.
14. DE LEMOS, R.A. Acceleration of appearance of pulmonary surfactant in the fetal lamb by administration of corticosteroids. Amer. Rev. Resp. Dis. 102, (1970), 459-461.
SHERMATA, D.
KNELSON, I.H.
AVERY, M.E.

15. DICKEY, R.P.
ROBERTSON, A.F. Newborn estrogen excretion.
Amer. J. Obstet. Gynec. 104,
(1969), 551-555.
16. DICZFALUSY, E. A modified theory of steroid syn-
thesis in the human foetoplacental
unit.
Symp. Dtsch. Ges. Endokrin. Vol.16,
Berlin, Springer-Verlag, 1970.
17. DICZFALUSY, E. Endocrine functions of the human
fetus.
Amer. J. Obstet. Gynec. 119, (1974),
419-433.
18. DITTRICH, A. Überwachung der normalen und patho-
logischen Schwangerschaft.
Laborblätter 26, (1976), 140-163.
19. DONALD, I.R.
FREEMAN, R.K.
GOEBELSMANN, U.
CHAN, W.H.
NAKAMURA, R. M. Clinical experience with the amni-
otic fluid lecithin/sphingomyelin
ratio.
Amer. J. Obstet. Gynec. 115,
(1973), 547-552.
20. DREHER, E. Fruchtwasseruntersuchungen am En-
de der Schwangerschaft.
Gynäkologe 6, (1973), 201-205.
21. FELDMANN, H.
RODBARD, D. Mathematical theory of radioimmu-
noassay.
in: ODELL, W.D.; DAUGHADAY, W.H.
(Hrsg.): Principles of competitive
protein-binding assay, Philadelphia,
Lippincott, 1971.
22. FENCL, M.D. cM.
TULCHINSKY, D. Total cortisol in amnion fluid and
fetal lung maturation.
N. Engl. J. Med. 292, (1975), 133-136.

23. GENNSER, G.
OHLANDER, S.
ENEROTH, P.
Cortisol in amniotic fluid and
cord blood in relation to prena-
tal betamethasone load and deli-
very.
Amer. J. Obstet. Gynec. 124, (1976),
43-50.
24. GERNER, R.
HALBERSTADT, E.
FORTMEYER, H.-P.
In vivo und in vitro Untersuchun-
gen zur Wirkung von Decortilen
(16-Methylenprednisolon) auf die
Lecithinsynthese der fetalen Lunge.
Z. Geburtsh. Perinat. 180, (1976),
183-188.
25. GEWOLB, I.H.
HOBBINS, J.C.
TAN, S.Y.
Amniotic fluid cortisol as an in-
dex of fetal lung maturity.
Obstet. Gynec. 49, (1977), 462-465.
26. GEWOLB, I.H.
HOBBINS, J.C.
TAN, S.Y.
Amniotic fluid cortisol in high-
risk human pregnancies.
Obstet. Gynec. 49, (1977), 466-470.
27. GIBBONS, J.M. jr.
HUNTLEY, Th. E.
CORRAL, A.G.
Effect of maternal blood contami-
nation on amniotic fluid analysis.
Obstet. Gynec. 44, (1974), 657-660.
28. GLUCK, L.
KULOVICH, M.V.
BORER, R.C.
BRENNER, P.H.
ANDERSON, C.G.
SPELLACY, W.N.
Diagnosis of the respiratory
distress syndrom by amniocentesis.
Amer. J. Obstet. Gynec. 109,
(1971), 440-445.
29. GLUCK, L.
KULOVICH, M.V.
Lecithin/sphingomyelin ratios in am-
niotic fluid in normal and abnormal
pregnancy.
Amer. J. Obstet. Gynec. 115, (1973),
539-546.

30. GLUCK, L.
KULOVICH, M.V.
BORER, R.C.
KEIDEL, W.N. The interpretation and significance of the lecithin/sphingomyelin ratio in amniotic fluid. Amer. J. Obstet. Gynec. 120, (1974), 142-155.
31. GOEBEL, R.
KUSS, E. Oestrogenbestimmungen bei 1000 Risikoschwangerschaften. Arch. Gynäk. 124, (1973), 446-448.
32. GOEBEL, R.
KUSS, E. Östrogene in der Schwangerschaft. Geburtsh. u. Frauenheilk. 34, (1974), 329-338.
33. HULL, M.G.R. The basis and application of estrogen assays on urine and blood to assess fetoplacental function in late pregnancy. J. Perinat. Med. 4, (1976), 137-162.
34. KENISTON, R.C.
PRESCOTT, G.H.
PERNOLL, M.L. Effects of freezing and thawing on certain properties of early gestation amniotic fluid. Obstet. Gynec. 3, (1975), 279-281.
35. KLOPPER, A. Assessment of fetoplacental function by hormone assay. Amer. J. Obstet. Gynec. 107, (1970), 807-827.
36. KEUTH, U. Membransyndrom der Frühgeborenen. Fortschr. Med. 16, (1973), 693-697.
37. KOTAS, R.V.
AVERY, M. E. Accelerated appearance of pulmonary surfactant in the fetal rabbit. J. appl. Physiol. 30, (1971), 358-361.

38. KULKARNI, B.D.
BIENIARZ, J.
BURG, L.
SCOMMEGNA, A. Determination of lecithin-sphingomyelin ratio in amniotic fluid. Obstet. Gynec. 40, (1972), 173-179.
39. KUSHINSKY, S.
TANG, J.W. Conjugated oestrogens I. Acta. Endocrinol. 43, (1963), 345-360.
40. KUSS, E. Klinisch-chemische Untersuchungen zur Überwachung der gefährdeten Schwangerschaft. Gynäkologe 7, (1974), 124-150.
41. KUSS, E. Biochemie und präpartale Diagnostik der Lungenreife. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 14, (1976), 505-513.
42. KUSS, E.
GOEBEL, R. Oestrogenbestimmung in der Schwangerschaft. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 14, (1976), 549-556.
43. LANG, N.
BELLMANN, O. Kritische Analyse des heutigen Standes der fetalen Risikoerkennung in der Schwangerschaft durch Hormonbestimmungen. Z. Geburtsh. u. Perinat. 181, (1977), 303-320.
44. LEHMANN, W.D.
MISINGER, J.
LAURITZEN, Ch. Umwandlungsrate von (4-¹⁴C) Dehydroepiandrosteron in Oestron und Oestradiol-17 β durch normale sowie Gestose- und Diabetes-Placenten. Arch. Gynäk. 210, (1971), 49-60.

45. LEONG, M.K.H.
MURPHY, B.E.P. Cortisol levels in maternal venous serum at vaginal delivery. Amer. J. Obstet. Gynec. 124, (1976), 471-473.
46. LINDBACK, T. Amniotic fluid lecithin concentration in pregnancies complicated by hypertensive disorders and intrauterine growth retardation. Acta. Obstet. Gynecol. Scand. 54, (1976), 355-360.
47. LINDBACK, T.
FRANTZ, T. Effect of centrifugation on amniotic fluid phospholipid recovery. Acta. Obstet. Gynecol. Scand. 54, (1975), 101-103.
48. LIGGINS, G.C. Premature delivery of foetal lambs infused with glucocorticoids. J. Endocr. 45, (1969), 515-523.
49. LIGGINS, G.C.
HOWIE, R.N. A controlled trial of antepartum glucocorticoid treatment for prevention of the respiratory distress syndrom in premature infants. Pediatrics 50, (1972), 515-525.
50. MORRISON, J.C.
WHYBREW, W.D.
BUCOVAZ, E.T.
WISER, W.L.
FISH, S.A. The lecithin/sphingomyelin ratio in cases associated with fetomaternal disease. Amer. J. Obstet. Gynec. 127, (1977), 363-368.
51. MÜLLER-TYL, E.
SALZER, H.
ALTMANN, P.
MÜLLER, M.M. Verschiedene Bestimmungsmethoden des Surfactant-Gehaltes des Fruchtwassers im Einsatz bei Serien-Untersuchungen an Schwangeren. Z.Geburtsh.u.Perinat.181, (1977), 251-259.

52. MURPHY, B.E.P. Conversion of maternal cortisol
CLARK, S.J. to cortisone during placental
DONALD, I.R. transfer to human fetus.
PINSKY, M. Amer. J. Obstet. Gynec. 118,
VEDADY, D. (1974), 538-541.
53. MURPHY, B.E.P. Cortisol and cortisone levels in
the cord blood at delivery of in-
fants with and without the respi-
ratory distress syndrome.
Amer. J. Obstet. Gynec. 119,
(1974), 1112-1120.
54. MURPHY, B.E.P. Cortisol and amniotic fluid
PATRICK, I. during human gestation.
DENTON, R.L. J.Clin. Endocrin. Metab. 40,
(1975), 164-167.
55. NAEYE, R.L. Adrenal gland structure and the de-
HARCKE, H.T. velopement of hyaline membrane
BLANC, W.A. disease.
Pediatrics 47, (1971), 650-657.
56. NEGULESCU, R.I. The influence of betamethasone on
STRECKER, J.R. the feto-placental unit.
LAURITZEN, Ch. A preliminary report.
PAL, S. J. Perinat. Med. 5, (1977), 120-132.
57. NELSON, G.H. Amniotic fluid phospholipid patterns
in normal and abnormal pregnancies.
Amer. J. Obstet. Gynec. 105, (1969),
1072-1077.
58. NELSON, G.H. A new method for evaluation of
urinary estriol determinations.
Amer. J. Obstet. Gynec. 106,
(1970), 646-655.

59. NEUMANN, F.
SCHENCK, B. Endokrinpharmakologie
in: FORTH, W./HENSCHLER, D./
RUMMEL, W. (Hrsg.):
Allgemeine und spezielle Pharma-
kologie und Toxikologie, B.I. -
Wissenschaftsverlag, Mannheim-Wien-
Zürich, 1975.
60. NIESCHLAG, E. Plasma corticosteroids free fatty
WOMBACHER, H. acids, insulin and glucose in ma-
KREMER, G.J. ternal blood during delivery.
Klin. Wschr. 48, (1970), 1066-1069.
61. NIESCHLAG, E. a review of radioimmunoassay for
WICKINGS, E.J. steroids.
Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 7,
(1975), 261-271.
62. NWOSU, U.C. Amniotic fluid cortisol concentration
BOLOGNESE, R.J. in normal labor, premature labor,
WALLACH, E.E. and postmature pregnancy.
BONGIOVANNI, A.M. Obstet. Gynec. 49, (1977). 715-717.
63. OHRLANDER, St.A.V. Impact of betamethasone load
GENNSER, G.M. given to pregnant woman on endo-
GRENNERT, L. crine balance of fetoplacental
unit.
Amer. J. Obstet. Gynec. 123,
(1975), 228-236.
64. OLSON, E.B. Amniotic fluid lecithin to sphin-
GRAVEN, S.N. gomyelin ratio of 3.5 and fetal
ZACHMAN, R.D. pulmonary maturity.
Pediat. Res. 9, (1975), 65-59.

65. OSATHANONDH, R. Dexamethasone levels in treated
TULCHINSKY, D. pregnant women and newborn infants.
KAMALI, H. J. Pediatr. 90, (1977), 617-620.
FENCL, M.
TAEUSCH, H.W.
66. PARKINSON, E.P. A comparison between the lecithin/
HARVEY, D.R. sphingomyelin ratio and other
methods of assessing the presence
of fetal pulmonary surfactant in
amniotic fluid.
J. Obstet. Gynec. Brit. Cwlth. 80,
(1973), 406-411.
67. PSCHYREMBEL, W. Grundriß der Perinatalmedizin.
DUDENHAUSEN, W. Walter de Gruyter, Berlin - New
York, 1972.
68. ROBERTSON, A. Human placental lipid metabolism.
SPRECHER, H. Amer. J. Obstet. Gynec. 99, (1967),
247-249.
69. ROUX, J.F. Fatty acid composition and concen-
NAKAMURA, J. tration of lecithin in the acetone
FROSOLONO, M. fraction of amniotic fluid phos-
pholipids.
Amer. J. Obstet. Gynec. 119,
(1974), 838-843.
70. SCHMID, J. Maternal and fetal plasma levels
of free corticosteroid in patho-
logical deliveries.
J. Perinat. Med. 3, (1975), 276-284.
71. SCHMIDT- MATTHIESEN, H. Gynäkologie und Geburtshilfe.
3. Auflage, Stuttgart - New York,
Schattauer-Verlag, 1976.

72. SHELLEY, S.A.
TAKAGI, L.R.
BALIS, J.U. Assessment of surfactant activity
in amniotic fluid for evaluation
of fetal lung maturity.
Amer. J. Obstet. Gynec. 116,
(1973), 369-376.
73. SIMMER, H.H.
TULCHINSKY, D.
GOLD, E.M.
FRANKLAND, M.
GREIPEL, M.
GOLD, A.S. On the regulation of estrogen
production by cortisol and ACTH
in human pregnancy at term.
Amer. J. Obstet. Gynec. 119,
(1974), 283-296.
74. SIVAKUMARAN, D.T.
DUNCAN, M.L.
EFFER, S.B.
YOUNGLAI, E.V. Relation ship between cortisol
and lecithin/sphingomyelin ratios
in human amniotic fluid.
Amer. J. Obstet. Gynec. 122,
(1975), 291-294.
75. SNEDECOR, G.W. Calculation of the intra-assay
coefficient of variation.
Biometrics 8, (1952), 85-86.
76. SPELLACY, W.N.
BUHI, W.C.
RIGALL, F.C.
HOLSINGER, K.L. Human amniotic fluid lecithin/
sphingomyelin ratio changes with
estrogen or glucocorticoid treatment.
Amer. J. Obstet. Gynec. 115,
(1973), 216-218.
77. SYBULSKY, S. Effect of antepartum betamethasone
treatment on cortisol levels in
cord plasma, amniotic fluid and
the neonate.
Amer. J. Obstet. Gynec. 127,
(1977), 871-874.

8. Dankvermerk

Herrn Prof. Dr. E. Nieschlag danke ich für die Überlassung des Themas und für die hilfreiche Unterstützung bei der Bearbeitung.

Frau E. J. Wickings, M. Sc., gilt mein Dank für die Hinweise zur statistischen Auswertung der Untersuchungsergebnisse.

Für die freundliche Unterstützung beim Sammeln der Fruchtwasserproben bedanke ich mich bei den Ärzten und Hebammen der Universitätsfrauenklinik Münster und bei Herrn Dr. H. Wesener-Roth, Münster.

Herrn Prof. Dr. Dr. E. Kuss, I. Frauenklinik der Universität München, danke ich für die Bereitstellung des Östriolantiserums und die technischen Hinweise zur Bestimmungsmethode der L/S-Ratio.

9. Lebenslauf

Am 20. April 1949 wurde ich als Sohn des Kaufmanns Wilhelm Herbst und seiner Ehefrau Anni Herbst in Gelsenkirchen geboren. Nach fünf Jahren Volksschule wechselte ich zur Realschule, wo ich nach sechsjähriger Schulzeit am 11.3.1966 das Abschlußzeugnis der "Mittleren Reife" erwarb. Mit dem Berufsziel "Chemielaborant" begann ich eine dreieinhalbjährige Ausbildung bei den Chemischen Werken Hüls. Nach erfolgreicher Abschlußprüfung besuchte ich das Oberhausen-Kolleg, eine Institution des "Zweiten Bildungsweges", wo ich nach fünfsemestrigem Studium am 15.12.1971 die Allgemeine Hochschulreife erwarb. Als anerkannter Kriegsdienstverweigerer leistete ich vom 4.4.1972 - 31.7.1973 zivilen Ersatzdienst auf der Intensivstation des Marienhospitals in Gelsenkirchen.

Zum Wintersemester 1973 immatrikulierte ich mich für das Fach Humanmedizin an der Universität Düsseldorf, wo ich nach vier vorklinischen Semestern am 25.8.1975 die "Ärztliche Vorprüfung" ablegte. Nach zwei klinischen Semestern bestand ich am 31.8.1976 den "Ersten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung". Für die folgenden vier Semester studierte ich an der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster. Hier legte ich nach insgesamt zehn Fachsemestern am 31.8.1978 den "Zweiten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung" ab. Der Erweiterung meiner medizinischen Kenntnisse diente eine Auslandsfamulatur an der Universitätsfrauenklinik von Singapur.

Die Ausbildung im "Praktischen Jahr" begann am 15.10.1978

am Klinikum Minden, akademisches Lehrkrankenhaus der Universität Münster. Als Fachgebiet im freien Tertial wählte ich Gynäkologie und Geburtshilfe.

Den dritten und letzten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung bestand ich am 18.10.1979. Die Approbation als Arzt wurde mir am 7.11.1979 erteilt.

